

# 烙铁头蛇毒血小板聚集素 作为筛选抗血小板药物的模式初探

马国义 张子昭 陈植和

(昆明医学院药理教研室)

## 摘 要

本文利用烙铁头蛇毒血小板聚集素 (TMVA) 作为筛选抗血小板药的 工具, 对三种中草药有效成分普罗托品, 三七叶总皂甙和珠子参总皂甙进行了筛选, 并与 ADP 模式相比较。结果发现普罗托品及珠子参总皂甙对 ADP 及 TMVA 诱导的家兔血小板聚集均有抑制作用; 而三七叶总皂甙则只能抑制 ADP 诱导的家兔血小板聚集, 不能抑制 TMVA 诱导的家兔血小板聚集。普罗托品抑制 ADP 及 TMVA 诱导家兔血小板聚集的  $IC_{50}$  分别为  $26.85 \pm 10.07 \mu M$  和  $38.04 \pm 12.11 \mu M$ 。珠子参总皂甙 (2 mg/ml) 抑制 ADP 及 TMVA 诱导的家兔血小板聚集的最大抑制率分别为  $51.7 \pm 4.7\%$  和  $50.3 \pm 4.7\%$ 。三七叶总皂甙 (3 mg/ml) 抑制 ADP 诱导家兔血小板聚集的最大抑制率为  $44.8 \pm 4.7\%$ 。

**关键词** 普罗托品 三七叶总皂甙 珠子参总皂甙 血小板聚集 烙铁头蛇毒血小板聚集素

烙铁头蛇毒血小板聚集素是从我国湖南产烙铁头蛇毒 (*Trimeresurus mucrosquamatus* venom) 中分离出的一种蛋白成分。能诱导人及多种动物的血小板聚集。它对血小板的活化作用是多方面的, 既可通过释放内源性 ADP, 促进花生四烯酸代谢产生  $TXA_2$ , 同时又可通过一条不依赖于 ADP,  $TXA_2$  释放的血小板活化第三条途径 (即 PAF 途径) 诱导血小板聚集 (陈宏等, 1986), 这就使它有可能成为筛选抗血小板药的一种新的模式, 本文利用该模式研究了三种中草药有效成分普罗托品、三七叶总皂甙及珠子参总皂甙对血小板聚集性的影响, 并与 ADP 模式进行了比较。

## 材 料 和 方 法

(一) 药品及试剂 TMVA (干粉) 中国科学院昆明动物研究所提供。二磷酸腺苷 (ADP) 美国 Sigma 公司产品。普罗托品 (Protopine) 系从藜苣科植物紫金龙根中提出的一种主要有效成分, 由大理医药公司提供。三七叶总皂甙系云南药物研究所供

给。珠子参总皂甙系昆明植物研究所提供。

(二) 富血小板血浆 (PRP) 和贫血小板血浆 (PPP) 的制备 健康家兔 (2—3 kg) 清醒状态下自颈动脉插管放血收集于硅化离心管中, 并用 3.8% 枸橼酸钠 9:1 (V/V) 抗凝, 室温离心 (1000 $\times$ g) 10 分钟取上层血浆即为富血小板血浆即 PRP。剩余血液再以 3000 $\times$ g 离心 15 分钟, 取上层液即为贫血小板血浆即 PPP。试验过程中 PRP 中的血小板数调节在 50—60 万/mm<sup>3</sup>。

(三) 血小板聚集实验 血小板聚集程度的测定按 Born 氏 1962 比浊法原理的修改法 (阮长耿等, 1983) 进行。药物对血小板聚集的抑制率按下式计算:

$$\text{聚集抑制率}(\%) = \frac{\text{对照聚集百分率} - \text{药物聚集百分率}}{\text{对照聚集百分率}} \times 100\%$$

## 结 果 和 讨 论

(一) Protopine 对 ADP 及 TMVA 诱导的家兔血小板聚集均有明显的抑制作用, 随着剂量的增加抑制作用逐渐增强 (见表 1), 其抑制 ADP 及 TMVA 诱导的家兔血小板聚集的 IC<sub>50</sub> 分别为 26.85  $\pm$  10.07  $\mu$ M 和 38.04  $\pm$  12.11  $\mu$ M。

表 1 Protopine 对 ADP 及 TMVA 诱导的家兔血小板聚集的影响

Table. 1 The effect of protopine on rabbit platelet aggregation induced by ADP and TMVA

药物剂量 (M)	诱导剂 观察指标	ADP (10 $\mu$ M)		TMVA (0.22 $\mu$ M)	
		聚集率 (%)	抑制率 (%)	聚集率 (%)	抑制率 (%)
0		58.0 $\pm$ 4.2	—	71.3 $\pm$ 5.4	—
1 $\times$ 10 <sup>-6</sup>		57.8 $\pm$ 4.3	0.35 $\pm$ 0.54	69.6 $\pm$ 4.2	2.3 $\pm$ 3.5
3 $\times$ 10 <sup>-6</sup>		43.6 $\pm$ 4.7**	24.9 $\pm$ 5.5	59.7 $\pm$ 9.8*	16.3 $\pm$ 6.2
1 $\times$ 10 <sup>-5</sup>		39.7 $\pm$ 3.0**	31.6 $\pm$ 2.0	52.8 $\pm$ 5.6**	25.8 $\pm$ 6.2
3 $\times$ 10 <sup>-5</sup>		30.8 $\pm$ 5.3**	46.9 $\pm$ 8.2	44.6 $\pm$ 5.5**	37.4 $\pm$ 6.6
1 $\times$ 10 <sup>-4</sup>		20.4 $\pm$ 6.0**	65.3 $\pm$ 8.1	30.1 $\pm$ 7.9**	58.1 $\pm$ 8.8
3 $\times$ 10 <sup>-4</sup>		2.7 $\pm$ 0.84**	95.4 $\pm$ 1.2	0.84 $\pm$ 1.5**	98.9 $\pm$ 2.1
1 $\times$ 10 <sup>-3</sup>		0.0 $\pm$ 0.0**	100.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0**	100.0 $\pm$ 0.0

$\bar{X} \pm SD (n = 6)$

\*  $P < 0.05$

\*\*  $P < 0.01$

(二) 三七叶总皂甙对 ADP 诱导的家兔血小板聚集有抑制作用, 而对 TMVA 诱导的家兔血小板聚集无影响 (见表 2)。

(三) 珠子参总皂甙对 ADP 及 TMVA 诱导的家兔血小板聚集均有抑制作用, 且随着剂量的增加抑制效应逐渐增强 (表 3)。

TMVA 是从我国湖南产烙铁头蛇毒中提出的一种蛋白成分, 能诱导人和多种动物的血小板发生聚集。它对血小板的活化作用是多方面的, 既可以通过释放内源性 ADP, 形成 TXA<sub>2</sub>, 又可通过一条不依赖于 ADP 及 TXA<sub>2</sub> 的途径即 PAF 途径诱导血小板聚集, 这

就使它有可能作为筛选抗血小板药的一种新模式。我们利用该模式对三种中草药有效成分进行筛选的结果表明: 普罗托品及珠子参总皂甙对 ADP 及 TMVA 诱导的家兔血小板聚集均有抑制作用, 而三七叶总皂甙则只抑制 ADP 诱导的家兔血小板聚集, 不抑制 TMVA 诱导的聚集, 说明 TMVA 作为筛选抗血小板药的模式有其自身的特点, 即能抑制 ADP 诱导的血小板聚集的药物不一定能抑制 TMVA 诱导的聚集, 而抑制 TMVA 诱导的聚集的药物则对 ADP 诱导的聚集也有作用。这与 TMVA 的生理特性相吻合。提示 TMVA 可作为一个新的筛选抗血小板药物模式。

表 2 三七叶总皂甙对 ADP 诱导的家兔血小板聚集的影响

Table. 2 The effect of total saponins of panax notoginseng leaves on rabbit platelet aggregation induced by ADP

药物剂量 (mg/ml)	诱导剂 观察指标	ADP (10 $\mu$ M)	
		聚集率 (%)	抑制率 (%)
0		56.6 $\pm$ 5.0	—
1.0		41.2 $\pm$ 5.1**	27.3 $\pm$ 4.5
2.0		35.7 $\pm$ 6.1**	36.3 $\pm$ 5.8
3.0		31.5 $\pm$ 4.2**	44.5 $\pm$ 3.6

$\bar{X} \pm SD (n = 6)$

\*\*  $P < 0.001$

表 3 珠子参总皂甙对 ADP 及 TMVA 诱导的家兔血小板聚集的影响

Table. 3 The effects of total saponins of panax japonicus on rabbit platelet aggregation induced by ADP and TMVA

药物剂量 (mg/ml)	诱导剂 观察指标	ADP (10 $\mu$ M)		TMVA (0.22 $\mu$ M)	
		聚集率 (%)	抑制率 (%)	聚集率 (%)	抑制率 (%)
0		53.5 $\pm$ 2.5	—	71.2 $\pm$ 4.8	—
0.5		42.3 $\pm$ 3.5**	18.6 $\pm$ 1.2	57.9 $\pm$ 4.1**	18.5 $\pm$ 4.8
1.0		36.1 $\pm$ 2.1**	32.5 $\pm$ 3.6	49.8 $\pm$ 3.9**	30.1 $\pm$ 2.9
2.0		25.3 $\pm$ 1.6**	51.7 $\pm$ 4.7	35.7 $\pm$ 0.9	50.3 $\pm$ 4.7

$\bar{X} \pm SD (n = 6)$

\*\*  $P < 0.01$

## 参 考 文 献

阮长耿等 1983 烙铁头蛇毒对血小板的活化作用。动物学研究 4(3):245—254

陈 宏 烙铁头蛇毒血小板聚集素 (TMVA) 诱导的人血小板活化作用的研究。见本专辑

Born GVR 1962 Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature* 194:927—929

Wang zhong *et al.*, 1982 Effect of a medicinal Chinese herb on human platelet function. *Thrombosis and Haemostasis* 48:301

## STUDIES ON TMVA USED AS A MODEL FOR SCREENING ANTIPLATELET DRUGS

Ma Guoyi Zhang Zizhao Chen Zhihe

(Department of pharmacology, Kunming Medical College)

TMVA is a protein abstracted from *Trimeresurus mucrosquamatus* venom. It can induce platelet aggregation of human and many animals. The effect is realized by several ways. TMVA can induce platelet aggregation not only by increasing the release of ADP and the formation of thromboxane  $A_2$ , but also by a pathway similar to that of PAF. Thus, TMVA may be used as a model for screening antiplatelet drugs. We primarily put the model to study the effects of three principles or components of Chinese medicinal herbs: protopine, total saponins of panax notoginseng (SAN CHI) leaves and total saponins of panax japonicus (ZHU ZI SHEN) on rabbit platelet aggregation. The results show both protopine and total saponins of panax japonicus can inhibit rabbit platelet aggregation induced by ADP and TMVA; Total saponins of panax notoginseng leaves can only inhibit rabbit platelet aggregation induced by ADP, but not by TMVA. These are in accord with the physiological properties of TMVA and show TMVA may be used as a good model for screening antiplatelet drugs.

Key words Protopine Total saponins of panax notoginseng leaves Total saponins of panax japonicus Platelet aggregation TMVA